医薬品研究開発におけるゲノムワイドな関連解析 (GWAS) の活用

劉 世 玉

Use of GWAS for Drug Discovery and Development

Shyh-Yuh Liou

*Clinical Pharmacology, Clinical Data Science Department, Japan Development Center,
Pharmaceutical Development Division, Takeda Pharmaceutical Co. Limited;
1-1 Doshomachi 4-chome, Chuo-ku, Osaka 540-8645, Japan.*

(Received October 31, 2013)

The Human Genome Project was completed in 2003. A catalog of common genetic variants in humans was built at the International HapMap Project. These variants, known as single nucleotide polymorphisms (SNPs), occur in human DNA and distributed among populations in different parts of the world. By using the Linkage Disequilibrium and mapping blocks are able to define quantitative characters of inherited diseases. Currently 50 K–5.0 M microarray are available commercially, which based on the results of following the ENCODE & 1000 genome projects. Therefore the genome wide association study (GWAS) has become a key tool for discovering variants that contribute to human diseases and provide maximum coverage of the genome, in contrast to the traditional approach in which only a few candidates genes was targeted. The available public GWAS databases provided valuable biological insights and new discovery for many common diseases, due to the availability of low cost microarray. The GWAS has the potential to provide a solution for the lack of new drug targets and reducing drug failure due to adverse drug reactions either. These are critical issues for pharmaceutical companies. Here, the Japan PGx Data Science Consortium (JPDSC), which was established on February 20, 2009 by six leading pharmaceutical companies in Japan, was introduced. We believe that the efforts of stakeholders including the regulatory authorities, health providers, and pharmaceutical companies to understand the potential and ethical risk of using genetic information including GWAS will bring benefits to patients in the future.

Key words——target discovery; drug development; postmarked drug; serious adverse event

はじめに

近年の SNP タイピング技術の飛躍的向上に伴い、世界レベルで数百のゲノムワイドな関連解析 (GWAS) が計画・実施され、今までに 10000 以上の疾患関連 SNP が見つかっている。これらの情報は個人情報の厳密な管理とともに、研究者間で情報を共有するためのデータベースが世界レベルで構築・運用されている。本稿では製薬企業の研究開発において各疾患の創薬ターゲットやバイオマーカー探索などアンメットニーズ対応と成功確率向上の医薬品研究開発への利用状況の紹介とともに、2009

年 2 月に国内製薬企業 6 社が、GWAS を中心とした遺伝子解析を通じて日本人の副作用の原因を解明し、安全性、有効性の高い薬開発を目的とする実用性の高い日本人の標準的 DNA データベースの構築を目指し、発足した「日本 PGx データサイエンスコンソーシアム」(Japan PGx Data Science Consortium; JPDSC) の活動状況と今後の展望について紹介する。

1. 各疾患の創薬ターゲットやバイオマーカー探索への貢献

製薬企業にとって今、最も重要な課題は、研究開発の生産性を大幅に向上させ、革新性の高い新薬をより早く患者さんに提供することにより人類の健康に貢献し、結果として競争優位性を確保し企業として生き残ることである。特にゲノム科学やロボット技術の発展により新薬の候補化合物が数多く作られ、高齢者における慢性的な疾患の新たな治療薬へ

The author declares no conflict of interest.

武田薬品工業株式会社医薬開発本部日本開発センター
クリニカルデータサイエンス部 (〒540-8645 大阪市
中央区道修町四丁目 1 番 1 号)

e-mail: Liou_Shyh-Yuh@takeda.co.jp

本総説は、日本薬学会第 133 年会シンポジウム S30-204 で発表した内容を中心に記述したものである。

の期待が高まっている一方で、巨額の開発費用を必要とする臨床試験、特に探索的臨床試験から検証的臨床試験に移行する段階（フェーズ 2a 段階）での成功率が低いことが問題となっている。各国の規制当局も患者に画期的な治療法をより早く提供するべく、U.S. Food and Drug Administration (FDA, 米国食品医薬品局)は白書“*Innovation or Stagnation*”と“*Critical Path Opportunities List*”を発表¹⁾した。

医薬品の研究開発において、薬物体内動態、薬物反応性、有害事象などの個人差の遺伝的要因にアプローチできる有効な手段として古くから注目されており、国内外大手製薬企業の多くは、レトロスペクティブな解析のために、臨床試験において DNA 試料のバンキングをルーチンに実施している。このような方法は、臨床試験で観察された現象に及ぼす遺伝的な要因を科学的に解析するための手段の 1 つであり、その有用性は疑う余地はない、しかし、ゲノムの情報はこのような用途に限定されるべきものではなく、創薬と臨床の橋渡し (TR) のために、より探索的な手段としてもっと積極的に取り入れていくべきである。特にアンメットニーズを狙った医薬品領域は、今まで効果的な医薬品が開発されなかった本質的原因が、疾患の動物モデルとヒト病態との間に乖離がある場合や標的とする分子の機能がヒトと動物モデルで異なることは存在している可能性がある。しかし、現在の分子生物学の知識でも、動物モデルでの結果をもって臨床での薬効を正確に予測することは困難であり、実際は、臨床試験の結果で創薬コンセプトの妥当性が判断されるのが現実である。ヒトゲノム計画の精密解読完了から今年は 10 年になる。国際 HapMap 計画²⁾や 1000 人ゲノムプロジェクト³⁾により、各人種における全染色体にわたる連鎖不平衡ブロック地図の作成や、各ブロックをカバーする Tag SNPs の選別が進み、ヒトゲノム解析に関しては、今まで多用されてきた候補遺伝子アプローチではかなわなかったゲノムワイド関連解析 (genome wide association study; GWAS) が可能となった。このような解析で取り扱われる膨大なゲノム情報は、疾患に関連した一塩基多型 (single nucleotide polymorphisms; SNPs) の探索や、関連した特定の領域の高精度な解析を可能にしている。患者と健常者の SNPs の頻度に有意な差が見い出される感受性遺伝子の候補 (SNPs) は既に 10000 以

上公表されている。⁴⁾ これは取りも直さず各疾患の創薬ターゲットになるものであり、新たな創薬競争がスタートしている。米国国立衛生研究所 (National Institute of Health; NIH) の国立橋渡し科学加速センター (National Center for Accelerating Translational Science; NCATS) が 2 型糖尿病、高脂血症、多発性硬化症と乾癬疾患領域からこのデータベースでヒットした標的遺伝子を評価したところ、GWAS の創薬のターゲット有用性を確認した。⁵⁾ また、グラクソ・スミスクライン株式会社の Sanseau らも、この GWAS データベースで見つかった 991 遺伝子の中で、212 (21%) は低分子医薬品の創薬と 469 (47%) はバイオ医薬品の創薬の可能性があり、155 (15.6%) は創薬のターゲットになっていることを報告した。⁶⁾

最近、バイオマーカーによって、医薬品に最適な患者集団の選別、すなわち、特定の均一な集団を選んで治療を想定することで、治験の被験者数を少なくでき、開発費を抑制する効果も期待できる上に、医薬品の開発成功確率を上げる効果も期待できると考えるようになった。特にがん領域では、バイオマーカーを使用しない医薬品開発における分析で、Phase I 開始から承認までの成功確率はわずか 5% と言われており、医薬品開発の生産性に影響を及ぼす要因として Phase II 又は Phase III の相移行確率の低さがあると報告されている。⁷⁾ 一方、抗がん剤開発の中でも、キナーゼ阻害剤及び抗体における相移行確率は比較的高いことが報告されており、これらの薬剤開発では層別化マーカーが利用されるケースが多かったと報告されている。⁸⁾ 2011 年 7 月に米食品医薬品局 (FDA) がコンパニオン診断薬ドラフトガイダンス、⁹⁾ その 4 ヶ月前の 2011 年 3 月には欧州医薬品庁 (European Medicines Agency; EMA) が、コンパニオン診断薬のリフレクションペーパー¹⁰⁾を相ついで発表した。同時に 8 月に米国食品医薬品局は、2 つの新薬とその新薬のコンパニオン診断薬の同時認可を実現した。認可されたのは、悪性黒色腫の標的薬「ZELBORAF」とその標的である変異型 BRAF タンパク質 (BRAFV600E) を検出する診断薬「Cobas 4800BRAF V600 Mutation Test」(RT-PCR) と、非肺小細胞がんの標的薬「XALCORI」とその標的である融合型 ALK 診断薬「Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit」であった。国内でも

2012年3-5月に協和発酵キリンの成人T細胞白血病リンパ腫を対象とする抗CCR4抗体「ポテリジオ」(モガムリズマブ)/協和メデックスのCCR4診断薬と、ファイザーの非小細胞肺癌の標的薬「XALCORI/一般名 Crizotinib」(ザーコリ)/アボットの「Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit」が承認された。

このように、コンパニオン診断薬を伴う医薬品の開発は特にがんの分野では必須になるが、しかし、コンパニオン診断薬を伴う医薬品の承認プロセスなど、明らかにしていかなければならない課題がたくさん残っている。¹¹⁾ コンパニオン診断薬を伴う医薬品の開発プロセスにおいて、GWASの手段を利用し、早期のバイオマーカー候補の決定はかなり重要である。また、探索的臨床試験から検証的臨床試験に移行する段階での開発の意思決定にも役立つ。

一方、近年、世界の製薬大企業(ビッグファーマ)は、common diseaseの新薬開発を捨てたわけではないものの、稀少疾患の新薬開発を目指す方向に大きく方向転換した。その理由は、審査のハードルが高くなったこともあり common diseaseの新薬開発の成功率が低く、莫大な費用がかかるため、コスト的に引き合い難くなっているからである。稀少疾患の医薬品開発の利点として、開発スピード、安い開発費用、価格プレミアム、低いマーケティングコスト、ジェネリック薬との競合に対する低リスクなどが挙げられる。また稀少疾患で新薬承認を獲得できれば、適用拡大の可能性もあり、市場が拡大する可能性もある。稀少疾患の原因遺伝子を解明する方法として候補遺伝子アプローチがある。しかし、GWASは前提を置かず膨大なゲノムデータから関連遺伝子を探索する方法である。これまで多くの場合 common diseaseを対象に行われてきたが、common diseaseの研究以外に、稀少疾患の関連遺伝子や薬物の標的探索にもGWASの活用が期待される。

2. 日本 PGx データサイエンスコンソーシアム(JPDSC)¹²⁾の活動

一般に、薬物の重篤な副作用の機序は、発症が主体の薬物曝露量に関係する Type A と関係しない Type B に大別される。Type A の副作用は投与量又は患者の薬物動態の個人差に依存するものであり、症状は薬物自体の薬理作用の過剰な発現であること

が多い。代表的な例は抗てんかん薬による錐体外路系副作用(眼振、アタキシアなど)などであり、軽度なものは日常診療でも比較的頻度高く観察されるが、重症なものは致命的にもなり得るこのタイプの副作用は、発症リスクが体内薬物量血液中薬物濃度に反映されるため、血中薬物濃度モニタリング(TDM)により予測及び予防可能である。Type A の副作用は新規医薬品の開発に係わる臨床試験(治験)でも大多数が検出可能であり、実際、医薬品候補化合物の医薬品としての評価は、得られるベネフィットとしての薬物効果と Type A の副作用のリスクのバランスに基づいている。ここで各種薬物動態関連遺伝多型を検出する薬理ゲノム学は役に立つ。

一方、Type B の副作用は、古くから特異反応(idiosyncrasy)として認識されてきたタイプの副作用であり、頻度は Type A 発症より低く、副作用発症リスクは投与量や体内動態変化に関連しないので、原因は主に患者側の体質に帰せられた副作用である。ただし、頻度は低いが、いったん発症すれば、しばしば重篤で致命的である(代表的な例は薬剤誘発性のアナフィラキシー、薬剤性肝炎、偽リンパ腫、再生不良性貧血、重篤な皮膚副作用などがある)これらの副作用は、従来予測が不可能であると考えられていた。安全性の問題で多くの化合物が開発中止や市場から撤退を余儀なくされ、このなかには、ブロックバスターであった薬剤もあり、市場からの撤退が製薬企業ビジネスに大きく影響したようなケースは、まさにこの Type B に多く属する。しかし、このように安全性の問題で市場からの撤退を余儀なくされた場合も、副作用を発現した患者の遺伝的要因を PGx により同定し、¹³⁾ その患者群を対象患者から除いた薬剤として再申請し復活することも可能になってきている。

2010年10月末に1000ゲノムプロジェクトの予備研究結果が発表された。²⁾ その結果から、アフリカ、ヨーロッパ、アジアの集団の間では、頻度の低い SNPs や遺伝子コピー数(CNV)などが著しく異なることが示されたことから、ある民族の大規模で標準的な SNP や CNV などのゲノム多型データベースを構築し、副作用が発現した患者の DNA 試料の関連解析を行う方法が提案されており、この取り組みはコスト削減の具体的な方法であると考えられている。この試みは、欧米の大手製薬企業では既

に行われており、欧米白人のコントロール DNA データベースを保有し副作用の関連遺伝子探索に活用している。¹⁴⁾ 日本人特有に発現する副作用の原因解明には、日本人のコントロール DNA データベース構築が必須であり、これは国内製薬企業の使命である。2009 年 2 月、アステラス製薬、大塚製薬、第一三共、大正製薬、武田薬品工業、田辺三菱製薬 6 社は、実用性の高い日本人の標準的コントロール DNA データベースの構築を目指し、JPDSC を設立した。²⁾

JPDSC の運営については、本コンソーシアムの最高意思決定機関である総会の決議により選任された会長が業務を執行し、創立時の会員各社から選任された運営委員 6 名から構成される運営委員会が本会の運営を推進している。また、必要に応じて広報 WG、研究推進 WG とデータ解析 WG の 3 つのワーキンググループを設置し、運営委員会を補佐することになっている。特にデータ解析 WG は、会員各社より 2-3 名を召集し、データベース構築、医薬品の研究・開発・製造販売後の安全性及び有効性評価を行う際に利用できるデータベースとなることの確認、解析手法の検討・検証を通じた各社のゲノム解析技術レベルの向上などの活動を盛んに行っている。

JPDSC はヒトゲノム・遺伝子解析研究を実施す

るにあたり、人間の尊厳を尊重し、提供者及びその家族や血縁者の人権を保障し、研究を適正に実施するため、ヒトゲノム・遺伝子解析の特色を踏まえ、すべてのヒトゲノム・遺伝子解析研究に適用され研究現場で遵守されるべき倫理を尊重する。その審議のために、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する指針」に従い、8 名のメンバーからなる倫理審査委員会を設置した。

また、会員企業が単独又は第三者と共同で医薬品を研究・開発・販売する際に利用できるデータベースとして構築し、副作用の原因遺伝子の効率的な探索を可能にすること、及び、その成果を個人の遺伝子情報に応じた医療に結びつけること、さらにこの活動を通じて企業におけるゲノム関連研究実施環境の整備に寄与していくことを考えている (Fig. 1)。

現在、予定通りに 3 期事業を終えて、これから JPDSC 加盟会社のゲノムデータ解析研究と能力向上を図り、データベースの維持管理とともに DNA の追加解析 (次世代シーケンスなど) を計画し、また、企業やアカデミアへコントロールデータベースの利用の機会を提供している。今まで、第 1 期では、事前に用意した約 1000 例の日本人コントロール DNA サンプルを、国立医薬品食品衛生研究所との共同研究である Stevens-Johnson 症候群の研究の対照として用い、日本人の遺伝子データ構築の有用

Fig. 1. Example of the Flow to Utilize the Database for No-JPDSC Member

性について大変有益な情報を得た。本研究では、991 人の JPDSC コントロールとアロプリノール服用による副作用発症群 14 人とのケース・コントロール研究により、すなわち、人種、民族、地域性などを考慮した多様な集団コントロールのデータを収集しておき、それを対照として臨床試験で副作用が認められた少数例の患者さんの試料を用いて、副作用に関連する遺伝子を同定することが有用な方法であることを検証できた。¹⁵⁾ その結果を踏まえ、第 2 期では、日本各地から地理学的人口分布に従い、男と女は均等で、約 2000 例の日本人コントロール DNA サンプルを収集した (Table 1)。第 3 期では、第 1 及び 2 期で収集した約 3000 例の DNA サンプルについて、DNA チップ (Illumina 250 万の SNPs) を用いて遺伝子多型を、また別に HLA 遺伝子多型 (HLA-A, -B, -C, DRB1, DPB1) をタイピングし、コントロール DNA データベースを構築した。このように PGx を活用して新薬開発の成功確率の向上に貢献し、また既に発売されている薬剤に対しては、重い副作用による市場からの撤退の回避に役立つ標準的日本人ゲノム多型データベースとして利用されるように期待している。

3. 今後の展望

今後 GWAS 情報は飛躍的に増大すると予想され、個別化医療への実現を加速すると思われる。新薬の創出においてボトルネックになっているのは、新規創薬ターゲットの枯渇である。しかしながら、

近年、DNA チップが安価になり簡便に使用できるようになったことから、多くの研究施設から大量の GWAS データが発表されている。そのほとんどは疾患関連遺伝子に関するものであり、種々の疾患においてリスク要因となる SNP や CNV が明らかになっている。これは取りも直さず各疾患の創薬ターゲットになるものであり、このように GWAS は医薬品の探索、開発や医療における強力なツールになることは間違いない。

また、今までよく報告されているように、薬物応答性、各疾患分野やウイルス耐性疾患感受性など、日本人がヨーロッパ系集団やアフリカ系集団などとは異なることがあるように、遺伝病ではない稀少疾患はしばしば人種差があることから、日本人に特徴的な多型・変異と疾患などの関連情報を整理体系化していくことが個別化医療実現のために必須である。また、GWAS で多くの疾患関連領域が同定されてきたが、関連を示したアレル頻度の高い SNP のみでは遺伝要因を完全に説明できない、このみつからない遺伝要因を同定する試みとして現在、大規模なトランスクリプトーム解析やゲノムワイドエビジェネティクス解析などが行われている。¹⁶⁾ また、次世代シーケンサーの普及に伴い、全ゲノムシーケンスやエクソーム解析も進行している。しかし、ゲノム解析コストの面と GWAS の知見はヒト疾患の病態を解明するための多くのヒントが絡んでいることから、今後の臨床研究の仮説立案において十分に役立つことと思われる。また、免疫学、生化学など各疾患領域の知見を統合し、科学的な病態解明やアンメットニーズへの対応においても期待される。そのためには、遺伝的情報の利用価値について、医療関係者や社会一般の人々に広く啓発していく必要がある。これらの努力は、将来、医療に携わるすべての組織、すなわち、国、医師、製薬企業、そして重篤な疾病に苦しんでおられる患者さんに恩恵をもたらすものと確信している。

REFERENCES

- 1) U.S. Food and Drug Administration, Critical Path Initiative: <http://www.fda.gov/ScienceResearch/SpecialTopics/CriticalPathInitiative/default.htm>, cited 16 January, 2014.
- 2) International HapMap Project: <http://hap->

Table 1. JPDSC Control Collection Based on Ratio of Population from 10 Regions of Japan

10 regions	JPDSC Sample sizes	Samples ratio	Population ratio (2010)
Hokkaido	119	4.0%	4.3%
Tohoku	220	7.3%	7.3%
Kanto	1183	39.5%	33.3%
Hokuriku	119	4.0%	4.3%
Tokai	308	10.3%	12.7%
Kinki	336	11.2%	17.8%
Chugoku	183	6.1%	5.9%
Shikoku	112	3.7%	3.1%
Kyushu	298	10.0%	10.3%
Okinawa*	116	3.9%	1.1%
Total	2994		

* Okinawa population is supplemented due to different genetic background reported.

- map.ncbi.nlm.nih.gov/index.html.ja), cited 16 January, 2014.
- 3) 1000 Genomes, A Deep Catalog of Human Genetic Variation: <http://www.1000genomes.org/>, cited 16 January, 2014.
 - 4) National Human Genome Research Institute, A Catalog of Published Genome-Wide Association Studies: http://www.genome.gov/gwa_studies/, cited 16 January, 2014.
 - 5) Collins F. S., *Sci. Transl. Med.*, doi: 10.1126/scitranslmed.3002747 (2011).
 - 6) Sanseau P., Agarwal P., Barnes M. R., Pastinen T., Richards J. B., Cardon L. R., Mooser V., *Nat. Biotechnol.*, **30**, 317–320 (2012).
 - 7) DiMasi J. A., Feldman L., Seckler A., Wilson A., *Clin. Pharmacol. Ther.*, **87**, 272–277 (2010).
 - 8) Walker I., Newell H., *Nat. Rev. Drug Discov.*, **8**, 15–16 (2009).
 - 9) European Medicines Agency, Reflection paper on methodological issues with pharmacogenomic biomarkers in relation to clinical development and patient selection, June 2011: http://www.google.co.jp/url?q=http://www.ema.europa.eu/ema/pages/includes/document/open_document.jsp%3FwebContentId%3DWC500108672&sa=U&ei=HzWPUM7vLOXZmAWU5ID4BA&ved=0CBUQFjAA&usg=AFQjCNElo6Jx4D84d-vT0kDrFcF0KXowCA, cited 16 January, 2014.
 - 10) U.S. Food and Drug Administration, Draft Guidance for Industry and FDA Staff: *In Vitro* Companion Diagnostic Devices, July 2011: <http://www.fda.gov/medicaldevices/deviceregulationandguidance/guidancedocuments/ucm262292.htm>, cited 16 January, 2014.
 - 11) Hinman L., Spear B., Tsuchihashi Z., Kelly J., Bross P., Goodsaid F., Kalush F., *Pharmacogenomics*, **10**, 127–136 (2009).
 - 12) Japan PGx Data Science Consortium (JPDSC): <http://www.jpds.org/>, cited 16 January, 2014.
 - 13) Nelson M. R., Bacanu S. A., Mosteller M., Li L., Bowman C. E., Roses A. D., Lai E. H., Ehm M. G., *Pharmacogenomics J.*, **9**, 23–33 (2009).
 - 14) The International Serious Adverse Event Consortium (iSAEC): <http://www.saeconsortium.org/>, cited 16 January, 2014.
 - 15) Tohkin M., Kaniwa N., Saito Y., Sugiyama E., Kurose K., Nishikawa J., Hasegawa R., Aihara M., Matsunaga K., Abe M., Furuya H., Takahashi Y., Ikeda H., Muramatsu M., Ueta M., Sotozono C., Kinoshita S., Ikezawa Z., Japan Pharmacogenomics Data Science Consortium, *Pharmacogenomics J.*, **13**, 60–69 (2013).
 - 16) Freedman M. L., Monteiro A. N., Gayther S. A., Coetzee G. A., Risch A., Plass C., Casey G., De Biasi M., Carlson C., Duggan D., James M., Liu P., Tichelaar J. W., Vikis H. G., You M., Mills I. G., *Nat. Genet.*, **43**, 513–518 (2011).